

# ヒト由来癌細胞における診断・治療用放射性医薬品の細胞外排泄機序の評価 辻内 孝文

## 要旨

抗癌剤が癌細胞内へ集積した後、adenosine triphosphate (ATP) binding cassette トランスポーターいわゆる ABC トランスポーターにより癌細胞外へ排泄される多剤耐性が癌治療で問題となっている。多剤耐性を抗癌剤投与前に判定するため、臨床核医学検査では、 $^{99m}\text{Tc}$  標識 2-methoxyisobutylisonitrile ( $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI) や  $^{99m}\text{Tc}$  標識 tetrafosmin ( $^{99m}\text{Tc}$ -TF) を癌患者に投与し、その早期像と後期像における  $^{99m}\text{Tc}$  標識放射性医薬品の集積率の差を減少率とした時、減少率が大きい癌細胞では ABC トランスポーターが高発現しており、多剤耐性を有すると最終的に結論付けている。また、内用治療用放射性医薬品である  $^{131}\text{I}$  標識 3-iodobenzylguanidine ( $^{131}\text{I}$ -MIBG) も ABC トランスポーターにより癌細胞外に排泄され、その治療効果が減少している可能性が考えられる。しかし、上記の放射性医薬品と様々な ABC トランスポーターとの関与は未だ不明な点が多く、その排泄機序を把握することは、多剤耐性の診断精度や内用治療効果の向上等の点で重要である。本研究では、診断用あるいは治療用放射性医薬品の癌細胞外排泄機序の解明を目的とした。

第 1 章では、 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI および  $^{99m}\text{Tc}$ -TF の癌細胞外排泄機序を詳細に検討した。まず、細胞外排泄に関与する ABC トランスポーター単一発現ベシクルを用いた結果、従来の報告通り両放射性医薬品の P-glycoprotein (P-gp) および multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1) への親和性を確認したことに加え、 $^{99m}\text{Tc}$ -TF では MRP2 および MRP3 への親和性が今回新たに確認できた。これらの ABC トランスポーターへの親和性を細胞レベルで確認するために、real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) により得られたヒト由来癌培養細胞における ABC トランスポーター遺伝子発現量の絶対定量解析結果を用いて、4 種類の癌細胞を選択した。これらの癌細胞に対して、P-gp 阻害剤である verapamil および MRP 阻害剤である MK571 を用いて  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI および  $^{99m}\text{Tc}$ -TF の排泄阻害実験を行った。その結果、両放射性医薬品はベシクルで親和性が確認された P-gp および MRP1 から排泄されるものの、中でも両放射性医薬品の排泄に対する MRP1 の寄与が大きかった。また、 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI の排

排泄は  $^{99m}\text{Tc-TF}$  と比べて投与後早期から確認され、 $^{99m}\text{Tc-MIBI}$  の排泄を阻害した時の集積増加量が  $^{99m}\text{Tc-TF}$  と比べて高かった。一方、 $^{99m}\text{Tc-TF}$  において、H441, A549 および PC3 における MK571 による阻害の結果、増加した集積量には差がほとんど見られなかった。従って、多剤耐性の評価を行う場合には、癌細胞内からの排泄が速くかつ多く認められた  $^{99m}\text{Tc-MIBI}$  を第一選択とすることで、抗癌剤の多剤耐性の評価における検査時間の短縮や診断精度の向上に繋がると思われた。一方、 $^{99m}\text{Tc-TF}$  を用いることにより、より広範な多剤耐性の検出の可能性が示された。

第 2 章では、内用治療用放射性医薬品による治療効果の向上を目的として、 $^{131}\text{I-MIBG}$  における癌細胞外排泄機序の解明と薬剤併用による細胞内滞留性向上の可能性を検討した。細胞外排泄に関与する ABC トランスポーター単一発現ベシクルを用いた結果、MRP1 および MRP4 への親和性が今回初めて明らかになった。癌細胞を用いて  $^{131}\text{I-MIBG}$  の細胞外排泄を確認するにあたり、 $^{131}\text{I-MIBG}$  内用治療の適用となるヒト由来神経芽細胞腫 (SK-N-SH) と他の 4 種類の癌細胞において ABC トランスポーター遺伝子発現量の絶対定量解析を行った。得られた ABC トランスポーター発現パターンから、SK-N-SH および MRP1, MRP4 両方の高発現が認められたヒト由来結腸腺癌 (DLD-1) を選択し、MRP 阻害剤として MK571 および probenecid (PBC) を用いて  $^{131}\text{I-MIBG}$  の排泄阻害実験を行った結果、ベシクルで確認された MRP1 と MRP4 への親和性が癌細胞を用いた検討でも確認できた。また、長時間の MRP 阻害剤負荷による  $^{131}\text{I-MIBG}$  の滞留性の維持が可能であり、阻害剤による内用放射線治療効果の向上が示唆された。特に、PBC は安全性が高く臨床上応用が可能であるため、PBC 併用による  $^{131}\text{I-MIBG}$  を用いた内用放射線治療の治療効果向上の可能性が示された。